

ヒトの移植関連HLA遺伝子群の

分子進化とその集団内多型機構

—放射線被爆者を含む—

原爆放射能医学研究所 堀 寛 理 学 部 鈴木 克周
 医学部 福田 康彦 総合科学部 日下部 眞一

プロジェクトの概要

大学生の皆さんも「骨髄バンク」という言葉なら一度や二度は新聞やテレビでお目にかかった事があるだろう。文字どおり骨髄を移植するためのデータバンクである。骨髄の役目は血球を生産することだが、被爆者に多くみられた白血病や再生不良性貧血は、この造血器官である骨髄が癌化したり再起不能に落ち入る病気である。そこで輸血ならぬ他人の骨髄を移入する骨髄移植という治療法がとられる。

さて、この治療法の難題は提供者(ドナー・以下D)と受容者(レシピエント・R)のいわゆる「白血球型」(Human Leucocyte Antigen: HLA)が容易には適合しない事にある。よく知られた赤血球型なら、A、B、O型やRh型などに留意すれば輸血(これも移植の一種)が可能で、DとRがマッチすることは珍しくはない。あかの他

人の血液を輸血することなどは日常茶飯事である。しかしHLAがマッチするのは十万人に一人の割合である。由に多くの人達のHLA型を決定し、登録し、いざという時に協力を求める「骨髄バンク」という大がかりな組織が必要となるのである。

また、HLAは臓器移植の際にも同様に重要である。すでに実績のある腎臓移植においても、スタートしたばかりの肝移植、心臓移植においても、治療成績の成否を決めるのは骨髄移植と同様にHLAがDとRでマッチしている事が決め手となる。どのような免疫抑制剤もHLAタイプング以上にはない得ない。移植臓器の生着にもHLA分子が関与しているのである。何故このようにHLAはマッチしにくいのだろうか。HLAの実体は白血球だけでなくあらゆる細胞の細胞膜上の膜糖タンパクである。それを遺伝子レベルで解析してみると、まずヒト第

六染色体上にHLAをコードする遺伝子が多数存在することがわかった。その遺伝子座は少なくとも十数個に及ぶ。しかも各遺伝子座あたりのヒト集団内での遺伝的多型の度合が高く、一座あたり三〇種以上の多型もある。この座位数の多さと多型の大きさがマッチする人が十万人に一人という低い確率になる原因である。

そこでこのプロジェクトでは、従来血清学的に同定されてきたHLAのタイプングではなく、遺伝子DNAの一次配列を直接判読する方法を開発する事を第一の目的とし、さらにDNA情報を核酸レベルで決定し、その多型を相互比較することで、多型機構の維持される機構を明らかにする事を第二の目的とした。とりわけ第一の目的は重要である。従来の血清学的方法では、HLA判定のための血清を妊婦血清の中からスクリーニングし提供してもらったり、輸血経験者から分離するという困難さがあった。しかし、新しい方法ではRとDのDNAを末梢血から分離し、PCR (Polymerase Chain Reaction) によってそのDNAの特定部位を増幅すればよく、この方法が完成すれば、経費・正確度・迅速性・永続性の上で、これは比較にならないほどの進歩といえる。

成果の概要

ヒトの末梢血二〇mlからリンパ球を分離しそのDNAをとる。このDNAを使用してPCR法でHLA遺伝子のみを増幅し、増えたDNAをSSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) 法と呼ばれるアクリルアミド電気泳動法によって処理した。DNA上のヌクレオチド配列の相違は、ゲル内の二本鎖DNAの部分二次構造に影響を与え、相違する二本のDNAはミスマッチハイブリッドし、DNA鎖は容易にゲル泳動上の相違として検出できる。これによって、HLAクラスII遺伝子DRB・DQBのほとんどどの型が検出可能となり、血清タイプングよりも強力かつ迅速なタイプングが可能となった。この成果は一九九二年八月の国際移植学会(パリ)で、発表(福田ら)した。

また、これらの多型を示すDNAの一次配列をデータベース化しその配列相互の比較を行い、ヌクレオチド置換の様相を解析した。その結果、多型の維持機構について重要な知見が得られた。従来からの分子進化学の経験ではタンパク質コーディング領域のヌクレオチド置換には明確な法則があり、ほとんどの置換が進化的に良くも悪くも